Versuche zur Synthese von Turanose-Derivaten

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt

im Mai 1940

von

Maximilian Bock

Studienassessor

aus München

1940

Hansa-Druckerei, Inh. Hans Schneider jun., München 13, Arcisstr. 61

Versuche zur Synthese von Turanose-Derivaten

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt

im Mai 1940

von

Maximilian Bock

Studienassessor

aus München

Berichterstatter: Geheimrat Professor Dr. H. Wieland

Tag der mündlichen Prüfung: 27. Juni 1940

1940

Hansa-Druckerei, Inh. Hans Schneider jun., München 13, Arcisstr. 61

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meiner lieben Frau

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Dezember 1938 bis Mai 1940 im Chemischen Institut der Universität München unter der Leitung von Herrn Dozent Dr. Friedrich K l a g e s durchgeführt, dem ich auch an dieser Stelle für die vielen Anregungen und Ratschläge und seine unermüdliche Hilfsbereitschaft wärmstens danken möchte.

Herrn Geheimrat Professor Dr. H. W i e l a n d sei hier für das wohlwollende Interesse, das er meinem Studium und meiner Arbeit stets erwies, mein ergebenster Dank ausgesprochen.

Inhaltsübersicht

Seite

Einleitung 1

Theoretischer Teil.

I. Versuche zur Darstellung von 1-α-Tetraacetyl-glucosido-2,3,4,5,6-pentacetyl-d-mannit 6

II. Versuche zur Darstellung des Phenylosazons der 6-α-Glucosido-glucose 11

Experimenteller Teil.

1) Partielle Tritylierung von d-Mannit 22

2) Änderung der Darstellung des 1,2-Monoaceton-d-mannit-4,5-monoborsäureesters 23

3) Darstellung von Pentacetyl-trityl-d-mannit 23

4) Darstellung von 1,2,3,4,5-Pentacetyl-d-mannit

a) Tritylabspaltung durch Bromwasserstoff-Eisessig 24
b) Tritylabspaltung durch Chlorwasserstoff-Chloroform 25
c) Tritylabspaltung durch katalytische Hydrierung 26

5) Versuch zur Retritylierung des Pentacetyl-d-mannits 27

6) Ausführung der Disaccharidsynthese 27

7) Verseifung des Acetatgemisches 28

8) Spaltung des β-glucosidischen Anteils durch Emulsin 29

9) Rückacetylierung 30

Seite

10) Versuch zur Trennung der Mono- und Disaccharidacetate durch fraktionierte Fällung 30

11) Trennung der Mono- und Disaccharidacetate durch Molekulardestillation

a) Modellversuch 34
b) Anwendung auf das synthetische Acetatgemisch 34

12) Darstellung des Phenylosazons 35

Einleitung

Die Turanose, ein dem Rohrzucker isomeres Disaccharid, ist bereits seit einigen Jahrzehnten bekannt. Man kennt sie als Bestandteil der Melezitose, einem Trisaccharid aus zwei Molekülen Glucose und einem Molekül Fructose, bei deren vorsichtiger Hydrolyse sie entsteht. Ebenso weiß man aus der Tatsache, dass sie Fehling'sche Lösung, aber nicht Hypojodit reduziert, dass in der Turanose das einzige Disaccharid mit Fructose als reduzierender Komponente vorliegt.

Ungeklärt war jedoch bei Beginn vorliegender Untersuchung die Frage, an welchem Kohlenstoffatom der Glucosidorest in die Fructose eingreift.

Die ersten Arbeiten über die Art der glykosidischen Verknüpfung wurden - wie so oft - gleichzeitig und unabhängig voneinander durchgeführt von R. K u h n und G.E. von G r u n d h e r r (1) in München, sowie von G. Z e m p l é n und G. B r a u n (2) in Budapest.

R. K u h n untersuchte zunächst das Verhalten der Melezitose und Turanose gegenüber Enzymen, wobei sich ergab, dass die Turanose in der Melezitose wahrscheinlich rohrzuckerartig an dem zweiten Glucoserest gebunden ist. Aus den reduzierenden Eigenschaften folgerte er - wie schon erwähnt -, dass die Turanose eine Glucosido-fructose mit reduzierender Ketogruppe darstellt. Damit ist für den Glucoseteil die Verknüpfungsstelle am Kohlenstoffatom 1 festgelegt und für den Fructose-

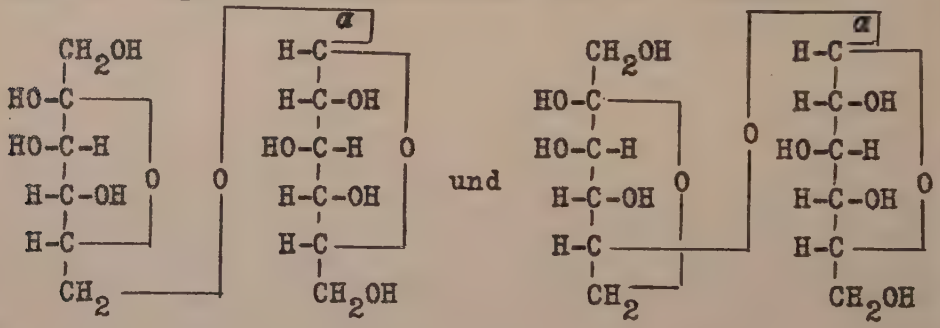
---

1) B. 59, 1655 (1926).
2) B. 59, 2539 (1926).

rest scheidet Kohlenstoffatom 2 mit Sicherheit aus. Das Vorhandensein eines Phenylosazons, das bereits M a q u e n n e (1) und E. F i s c h e r (2), darstellten, schließt nach R. K u h n auch die Bindung des Glucosidorestes an Kohlenstoffatom 1 der Fructose aus, doch ist nach der Darstellung von 2,3-Osazonen der Glutose und Galtose (Pentosen) nach de B r u y n und van E k e n s t e i n (3) dieser Schluss nicht zwingend.

Hinsichtlich der Konfiguration des glucosidischen Restes folgert aus dem hohen Drehwert der Turanose von + 75.3° eindeutig α-glucosidische Verknüpfung.

G. Z e m p l é n (4) führte die Methylierung der Melezitose durch und erhielt bei nachfolgender Hydrolyse 1,3,4-Trimethyl-d-fructose. Auf Grund dieses Befundes konnten auch die Möglichkeiten der Verknüpfung an Kohlenstoff 3 und 4 der Fructose ausgeschlossen werden und es blieben nur mehr die Kohlenstoffatome 5 oder 6 als Bindungsstellen übrig. So kam man zu folgenden Formelbildern für die Turanose:



Z e m p l é n entschied sich in Analogie zu anderen in der Natur vorkommenden Fructosederivaten für

1) C.r. 117, 127 (1893).
2) B. 27, 2486 (1894).
3) Rec.d.trav.chim. de Pays-bas 18, 73 (1899).
4) B. 59, 2230 (1926).

die Formel I. P a c s u (1) dagegen trat für Formel II ein. Er begründete seine Ansicht hauptsächlich mit der Tatsache, dass es ihm gelang, drei Tritylreste in das Turanosemolekül einzuführen. Da sich der Tritylrest bekanntlich nur mit einer primären Hydroxylgruppe zu einem Äther umsetzt, ist obiger Befund nur mit Formel II vereinbar. Denn nur bei dieser kann ausser den bereits vorliegenden zwei primären OH-Gruppen nach Aufspaltung des Fructo-pyranoseringes am Kohlenstoffatom 6 des Fructoseteils ein drittes primäres Hydroxyl auftreten. Analoge Aufspaltungen von Pyranoseringen bei der Tritylierung wurden an n-Pentosen beobachtet.

Das war der Stand der Untersuchungen bei Beginn unserer Arbeit. Er konnte nicht befriedigen; denn obwohl Ausnahmen von der Tritylierungsregel bisher nicht bekannt waren, so schien doch dieses eine Argument der Aufnahme von drei Tritylresten bei der Wichtigkeit der sich hieraus ergebenden Folgerungen nicht ausreichend genug. Denn:

1) Die Annahme P a c s u s bedeutet, dass die Melezitose das einzige bekannte Fructopyranosederivat vorstelle, das in der Natur vorkommt.

2) Die Formel II ergibt keine Übereinstimmung mit dem rohrzuckerartigen Verhalten der Turanose gegenüber Enzymen.

3) Es bestünde weiter keine Übereinstimmung der Melezitose mit anderen natürlichen Trisacchariden, die sämtlich nicht nur Fructofuranose, sondern sogar das ganze Rohrzuckersystem enthalten.

4) Die Drehwerte der Melezitose stünden ferner auch nicht im Einklang mit den H u d s o n'schen Superpositionsregeln, die im Falle der Melezitose mehr für eine Furanose sprechen.

---

1) Am.Soc. 53, 3099 (1931).

Unter diesen Umständen schien uns die Formel I die wahrscheinlichere zu sein. Doch war es notwendig, diese Annahme noch durch neue Experimente zu stützen.

Es wurden daher auf Anregung von Herrn Dozent Dr.habil. Friedrich K l a g e s in vorliegender Arbeit einige Versuche unternommen, die Frage der Turanosekonstitution auf dem Wege der Synthese zu klären, und zwar versuchten wir, im Sinne der uns wahrscheinlicher erscheinenden Formel I einige Derivate der 6-α-Glucosido-fructose darzustellen.

Leider musste diese Untersuchung vorzeitig unterbrochen werden, nachdem P a c s u in einer neueren Arbeit (1) seine eigene, von uns angezweifelte Turanoseformel widerrief und eine dritte Formel aufstellte, die - wenn sie auch nur auf indirekten Schlüssen beruht - doch allen Ansprüchen genügt, so dass jeder weitere Versuch, die Formel I zu beweisen, hinfällig wurde.

P a c s u fand zunächst, dass große Unterschiede bestehen zwischen der reinen, kristallisierten 1,3,4-Trimethyl-fructose und dem sirupartigen Produkt, das Z e m p l é n und L e i t c h bei der Permethylierung der Melezitose und der nachfolgenden Hydrolyse gefunden hatten. Gerade diese 1,3,4-Trimethyl-fructose war aber bis zu der neuen Feststellung P a c s u s das Fundament gewesen für die Ansicht, dass Turanose nur entweder eine 5- oder eine 6-Glucosido-fructose sein könne.

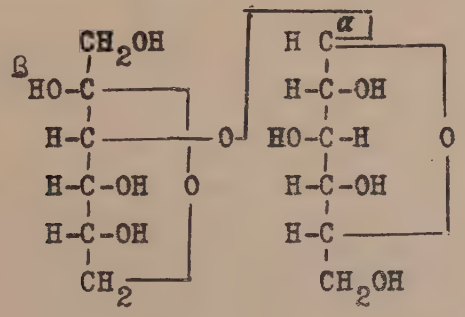
P a c s u bewies weiterhin, dass auch Kohlenstoffatom 1 nicht als Ort der Verknüpfung in Frage kommt; denn die von ihm synthetisierte 1-ß-Glucosido-fructose war in jeder Hinsicht von der Turanose verschieden, auch unter Berücksichtigung der vorhandenen ß-Isomerie. Insbesondere war sie nicht befähigt, ein 2,3-

---

1) Am.Soc. 61, 2675 (1939).

Osazon zu bilden. Auch eine Bindung in 4-Stellung kommt nicht in Frage, weil sonst das Turanosazon identisch sein müsste mit Maltosazon, was bekanntlich nicht zutrifft. Die Möglichkeit der Bindung in 6-Stellung fällt wegen der Bildung der Tri-Tritylverbindung fort, die in 5-Stellung schließlich wegen der Analogie der Melezitose zu anderen Fructofuranose- bezw. Rohrzuckerderivaten.

So bleibt nurmehr die Annahme einer 3-α-Glucosidofructose der Formel III übrig, die P a c s u zur Zeit für die wahrscheinlichste hält. Ausserdem spricht für diese Formel der Befund von I s b e l l und P i g m a n (1), wonach die kristallisierte Turanose eine Pyranose-Furanose-Mutation aufweist. Das ist aber nur möglich, wenn sowohl Kohlenstoffatom 5 wie auch 6 unbesetzt sind.



III

1) Bur. Standards J.Research 20, 787 (1938).

Theoretischer Teil

Die Synthese eines Disaccharids mit Fructose als reduzierender Komponente ist sehr schwierig, da mit Ausnahme einiger nicht kristallisierender Tetramethylfructosen partiell substituierte Fructosederivate nicht bekannt sind. Wir haben daher von vorneherein auf die Synthese der Turanose selbst verzichtet und haben nur versucht, Disaccharidderivate herzustellen, welche die Turanose- - die Richtigkeit der erwogenen Konstitution vorausgesetzt - mit den entsprechenden Derivaten der 6-α-Glucosido-glucose (6-Isomaltose) bezw. 6-α-Glucosido-mannose gemeinsam hat. Als solche kamen in Frage:

1) Die entsprechenden Zuckeralkohole, also der 6-Glucosido-sorbit und der 1-Glucosido-mannit (eine Ketose liefert bekanntlich zwei Zuckeralkohole, da Kohlenstoffatom 2 bei der Reduktion asymmetrisch wird). Beide Zuckeralkohole wurden in Form ihrer Acetylverbindungen von P a c s u (1) durch katalytische Hydrierung von Turanosederivaten dargestellt. Es sind gut kristallisierende und daher zur Identifizierung wohl geeignete Substanzen.

2) Das Turanosazon, das auf Grund unserer Hypothese mit dem 6-Isomaltosazon identisch sein sollte.

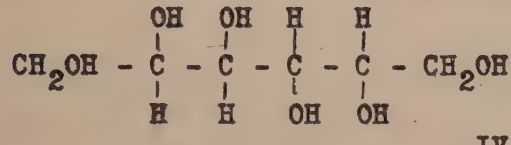
I. Versuche zur Darstellung von 1-α-Tetramethyl-glucosido-2,3,4,5,6-pentacetyl-d-mannit.

Zunächst haben wir uns entschlossen, die Synthese des 1-Glucosido-mannits zu versuchen, da die Zuckeralkohole gegenüber den Osazonen den Vorteil des schär-

---

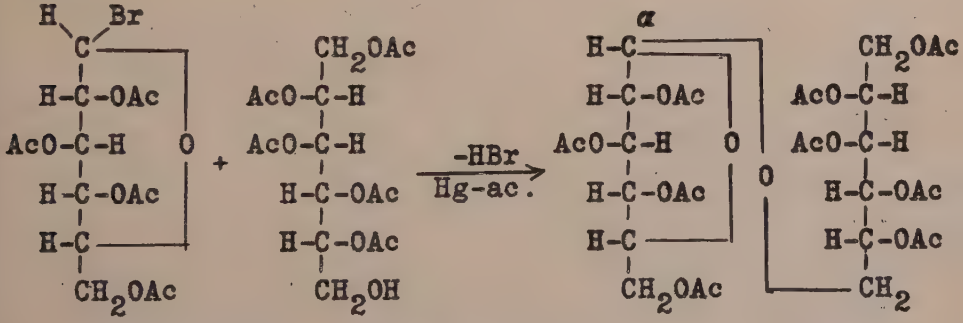
1) Am.Soc. 54, 3649 (1932).

feren Schmelzpunkts und damit auch der besseren Identifizierbarkeit haben. Andererseits bietet der Mannit mit seiner zentrosymmetrischen Anordnung der asymmetrischen Kohlenstoffatome im Gegensatz zum Sorbit den Vorteil, dass es gleichgültig ist, an welchem der beiden endständigen Kohlenstoffatome die zur Synthese freigehaltene Hydroxylgruppe sich befindet.



IV

Die Synthese selbst sollte dann nach der Methode von G. Zemplén (1) mit α-Acetobromglucose und einem 2,3,4,5,6-pentasubstituierten Mannit, am besten Pentacetylmannit, in Gegenwart von Quecksilberacetat erfolgen, da dies das einzige Verfahren ist, das unter gewissen Bedingungen das Zustandekommen einer α-glucosidischen Verknüpfung gewährleistet. Die Synthese sollte nach folgender Gleichung vor sich gehen:

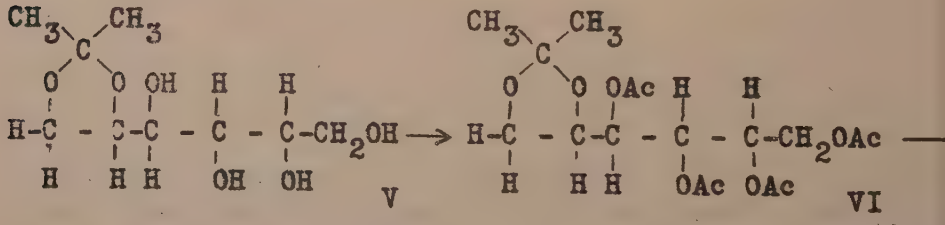


Hierzu war es notwendig, zu dem bisher noch nicht dargestellten Pentacetyl-d-mannit zu gelangen. Der beste Weg erschien uns auch hier über die von H e l f e r i c h bei der Glucose vorgeschlagene Tritylierung zu verlaufen.

---

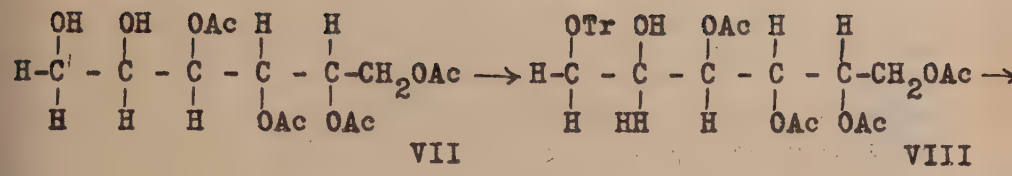
1) B. 64, 1852 (1931).

Zunächst wurde versucht, überschüssigen Mannit an nur einer Seite des Moleküls partiell zu tritylieren, um nach anschließender Acetylierung in nur zwei Stufen zu dem gewünschten Trityl-pentacetyl-mannit zu kommen. Obwohl sich der überschüssige Mannit sowie die Mono- und die Ditritylverbindung leicht durch fraktionierte Kristallisation aus verdünntem Alkohol trennen ließen, überwog doch die entstandene Ditritylverbindung so stark, dass die Ausbeuten an Mono-tritylmannit gering und schlecht reproduzierbar waren. Wir gaben daher diese Versuche auf zugunsten einer anderen Methode, die zwar über weit zahlreichere, doch einwandfrei und mit guter Ausbeute verlaufende Zwischenstufen zu dem Trityl-pentacetyl-mannit führte. Darnach wurde im Sinne der Formel V bis X zuerst die eine der primären OH-Gruppen nach V a r g h a (1) durch einen Acetonrest blockiert, der entstandene 1,2-Monoaceton-d-mannit (V) zu (VI) acetyliert und schließlich der Acetonrest mit 70 %iger Essigsäure wieder abgespalten. Diesen 3,4,5,6-Tetracetyl-d-mannit (VII) hatte V a r g h a noch hergestellt. Wir gingen nun weiter und stellten durch Verätherung der primären Hydroxylgruppe mit Triphenylchlormethan die Stufe VIII dar, die jedoch nicht isoliert, sondern anschließend gleich weiter zu 1-Trityl-2,3,4,5.6-pentacetyl-mannit acetyliert wurde, sodass sich die Zahl der Stufen um eine verringerte.

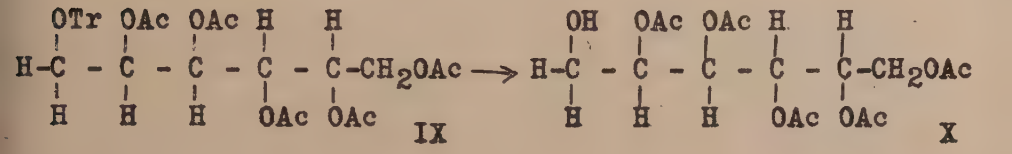


V VI

1) B. 66, 1394 (1933).



VII VIII



IX X

Der neue Körper ließ sich stets sehr gut in Form schöner prismatischer Kristalle isolieren und es wurden Ausbeuten von etwa 50-52 % erzielt, bezogen auf den eingesetzten Mono-aceton-mannit.

Hatte sich bis zu dieser Stufe die Synthese des Pentacetylmannits noch befriedigend verwirklichen lassen, so ergaben sich bei der in der Glucosereihe so leicht durchführbaren Abspaltung des Tritylrestes sehr große Schwierigkeiten.

Die Abspaltung wurde zuerst nach der Methode von H e l f e r i c h mit Bromwasserstoff-Eisessig versucht. Wir erhielten zwar das gewünschte Abspaltungsprodukt, aber die Ausbeute an kristallisiertem Pentacetyl-d-mannit war in jedem Fall gering und auch diese geringe Ausbeute war schwer reproduzierbar.

Immerhin ließ sich der in feinen Nädelchen kristallisierende Pentacetyl-d-mannit gut definieren. Er zeigte einen scharfen Schmelzpunkt und lieferte gute Analysenergebnisse.

Die Ursache für die schlechte Ausbeute, die ganz im Gegensatz steht zur Darstellung der 1,2,3,4-Tetracetylglucose, scheint darin zu liegen, dass die freie Hydroxylgruppe in direkter Nachbarschaft zu einer Acetyl-

gruppe steht, wodurch die Voraussetzung zu einer Acylwanderung gegeben ist. Aus dem hierbei entstehenden Gemisch von Isomeren kristallisiert naturgemäß das angestrebte Produkt sehr schwierig aus. Bei der Tetraacetylglucose dagegen muss die Acetylgruppe wegen des Eingreifens des Pyranoseringes am fünften Kohlenstoffatom von Kohlenstoffatom 4 nach Kohlenstoffatom 6 wandern, was die etwas größere Stabilität erklärt.

Da anzunehmen war, dass das bei der angewendeten Methode unvermeidliche saure Medium, das namentlich bei der Aufarbeitung des Abspaltungsproduktes mit Wasser auftritt, die Acylwanderung beschleunigen könnte, wurden auch noch andere Abspaltungsmethoden versucht, bei denen das Entstehen einer wässrigen Halogenwasserstoffsäure vermieden werden konnte. Hierzu gab es folgende Möglichkeiten:

1) Abspaltung des Tritylrestes mit Chlorwasserstoff-Chloroform-Lösung (1). Hier wurde bei der Aufarbeitung erst wiederholt mit Chloroform im Vakuum abgedampft zur Entfernung des Chlorwasserstoffs und dann erst mit Wasser aufgenommen.

2) Tritylabspaltung durch katalytische Hydrierung (2) in verschiedenen Lösungsmitteln. Die Abspaltung erfolgte jedoch nur bei Verwendung von Eisessig. In Dioxan oder Alkohol ließ sie sich nicht durchführen.

Die beiden Methoden erbrachten aber leider keine wesentliche Verbesserung der Ausbeute. Wohl lieferten sie das nämliche Abspaltungsprodukt wie die Methode nach H e l f e r i c h und können somit als Beweis für die Existenz des neuen Pentacetyl-d-mannits angesehen werden, die Ausbeute war aber in beiden Fällen nicht besser geworden.

---

1) Micheel, B. 65, 262 (1932).
2) Micheel, ebenda.

Bei den angegebenen schlechten Ausbeuteverhältnissen erschien es nicht zweckmäßig, den Pentacetyl-d-mannit als Ausgangsmaterial für die Disaccharidsynthese zu verwenden. Die Versuche in der Mannitreihe wurden deshalb aufgegeben.

II. Versuche zur Darstellung des Phenylosazons der 6-α-Glucosido-glucose.

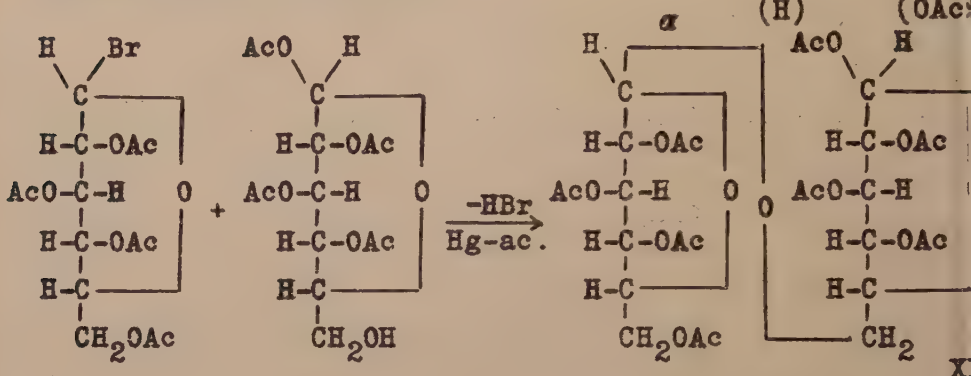
Es blieb jetzt nur noch die zweite der oben beschriebenen Möglichkeiten übrig, die Synthese des 6-Iso-maltosazons, das bei Annahme der Turanose als eine 6-α-Glucosido-fructose mit Turanosazon identisch sein musste. Trotz der unangenehmen Schmelzpunktseigenschaften der Osazone hofften wir, durch Hinzuziehen von Drehwertsmessungen eine eventuelle Identität beweisen zu können.

Kristallisierte Derivate der 6-Iso-maltose sind bisher nicht bekannt. Lediglich ein sirupöses Heptacetyl-methyl-isomaltosid und ein ebenfalls sirupartiges Methylierungsprodukt wurden von Z e m p l é n auf synthetischem Wege mit Hilfe seiner Quecksilberacetat-Methode dargestellt. Diese beiden Stoffe kamen aber wegen der Blockierung der reduzierenden Gruppe als Ausgangsmaterial für eine Osazondarstellung nicht in Frage.

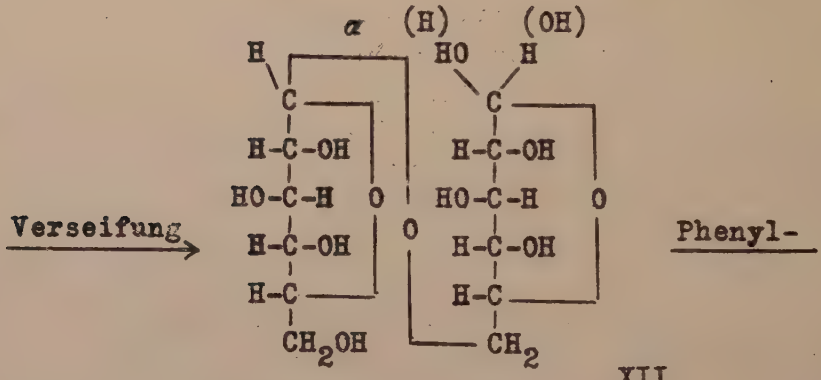
Wir wählten daher als Ausgangsstoff für unsere Synthese die von H e l f e r i c h (1) dargestellte ß-1,2,3,4-Tetracetyl-glucose. Denn aus dem mit Acetobrom-glucose gewonnenen Disaccharid-octacetat sollte durch Verseifung leicht die freie 6-Isomaltose und daraus das gewünschte Osazon darzustellen sein. Schließlich bestand auch die Möglichkeit, aus dem freien Kohlehydrat mit Emulsin die eventuell bei der

1) A. 450, 222 (1926).

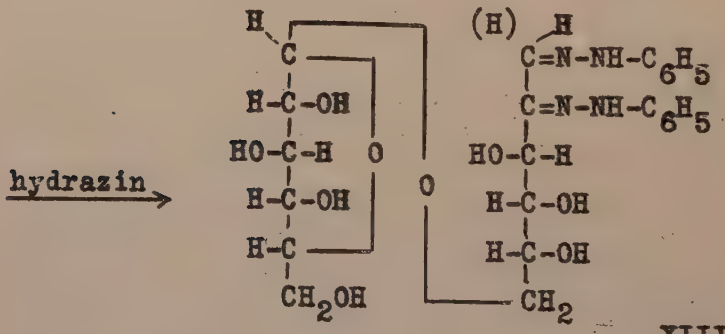
Synthese als Nebenprodukt entstandene Gentiobiose (6-ß-Glucosido-glucose) zu entfernen. Der Verlauf der gesamten Osazonsynthese sei durch folgende Formelreihe kurz skizziert:



X

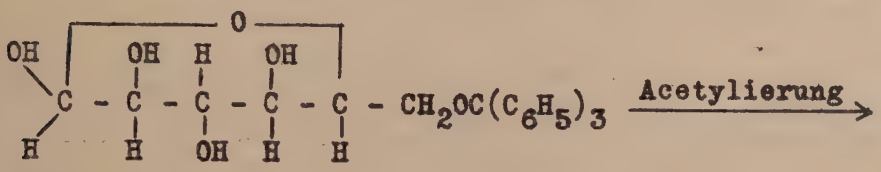


XII

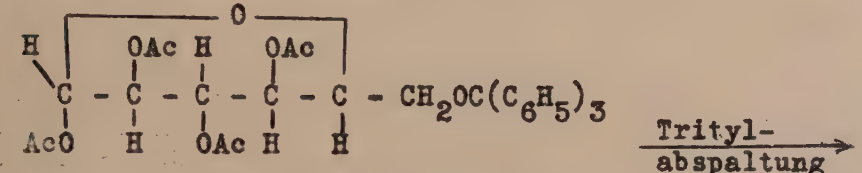


XIII

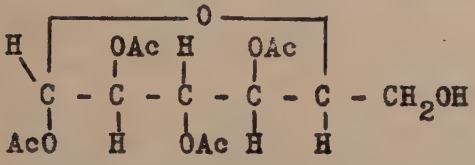
Die als Ausgangsmaterial zur Synthese dienende Tetracetyl-glucose ließ sich nach H e l f e r i c h leicht aus Glucose über folgende Stufen erhalten:



6-Trityl-α-d-glucose



6-Trityl-1,2,3,4-ß-d-glucose



1,2,3,4-Tetracetyl-ß-d-glucose

Die 1,2,3,4-Tetracetyl-ß-d-glucose trägt die für die Synthese benötigte freie OH-Gruppe am Kohlenstoffatom 6.

Die Synthese selbst geschah nach der bereits oben erwähnten Methode von Z e m p l é n mit Quecksilberacetat als Kondensationsmittel. Wie schon erwähnt, gestattet diese Methode, im Gegensatz zu den älteren Verfahren mit Silbercarbonat von K ö n i g s und K n o r r , auch α-glucosidische Bindungen herzustellen. Nach Z e m p l é n hängt das Auftreten von α- oder ß-glucosidischer Verknüpfung ab sowohl von dem angewandten Überschuss der alkoholischen Komponente, in unserem Falle der

Tetracetylglucose, wie auch von der Menge des zugesetzten Quecksilberacetats. Dabei wird bei einem geringen Überschuss der alkoholischen Komponente, ebenso wie bei wenig Quecksilberacetat, die Bildung der α-Form, bei einem großen Überschuss von Alkohol sowie einer größeren Menge von Quecksilberacetat die ß-Form begünstigt. Eigenartig ist, dass stets etwas weniger als die stöchiometrische Menge Quecksilberacetat angewendet werden muss, damit die Synthese überhaupt stattfindet. Das bedeutet, dass die Synthese also stets in schwach bromwasserstoffsaurem Medium vor sich geht.

Da die Bedingungen, unter denen die α-Form entsteht, von Fall zu Fall verschieden sind, haben wir zunächst in einer Reihe von Vorversuchen nach beiden erwähnten Richtungen hin die günstigsten Bedingungen für den α-glucosidischen Verlauf der Synthese ermittelt. Die Konfiguration des Reaktionsproduktes wurde vorerst durch Drehwertsbestimmungen des erhaltenen Octacetats im Gemisch mit noch beigemengter Pentacetylglucose festgestellt. Die Ergebnisse sind in folgenden Tabellen zusammengestellt, die den Einfluss der Mengenverhältnisse auf den Verlauf der Synthese aufzeigen.

Tabelle 1.

Änderung der Quecksilberacetat-Menge.

α-Acetobrom-glucose	Quecksilber-acetat	Tetracetyl-glucose	$[\alpha]_D^{20}$ des Octa-acetats(Chlf.)
je 1 Mol	1 Mol	je 1 Mol + 12 %	+ 18.05°
	1 Mol - 15 %		+ 39.2°
	1 Mol - 25 %		+ 46.7°

Tabelle 2.

Änderung der Menge der Tetracetyl-glucose.

α-Acetobrom-glucose	Quecksilber-acetat	Tetracetyl-glucose	$[\alpha]_D^{20}$ des Octa-acetats (Chlf.)
je 1 Mol	je 1 Mol-23%	1 Mol	+ 56.2°
		1 Mol + 5 %	60.9°
		1 Mol + 10 %	49.7°
		1 Mol + 20 %	60.3°
		1 Mol + 25 %	61.2°
		1 Mol + 30 %	60.1°
		2 Mol	52.0°
		3 Mol	45.3°
		4 Mol	15.5°

Aus den Tabellen ist ersichtlich, dass der höchste positive Drehwert und damit die Gewähr für einen möglichst großen Anteil an α-glucosidischem Disaccharid erreicht wurde bei Anwendung von 77 % der äquivalenten Menge an Quecksilberacetat und bei einem 25 %igen Überschuss an Tetracetylglucose.

Mit diesen optimalen Mengenverhältnissen führten wir mehrere Synthesen in größeren Ansätzen durch. Die Versuche waren innerhalb der Fehlergrenzen reproduzierbar. Erwartungsgemäß gelang es in keinem Fall das Octacetat zur Kristallisation zu bringen. Denn es ist folgendes zu bedenken:

a) Das Reaktionsgemisch enthielt ausser einem Überschuss an Tetracetylglucose, der nach Z e m p l é n durch Ausschütteln der Benzollösung mit Wasser größtenteils entfernt werden konnte, auch noch etwas auf diesem Weg

nicht abtrennbare Pentacetylglucose, die durch direkten Umsatz von Acetobromglucose mit Quecksilberacetat entsteht. Da dieses Pentacetat ebenfalls in der α- und ß-Form auftreten kann, ist es auch möglich, dass die oben angegebenen Drehwerte dadurch beeinflusst sind.

b) Es ließ sich nicht vermeiden, dass bei der Synthese auch die ß-glucosidische Gentiobiose entstand. Die Drehwerte zeigen das ohnehin an. Der Drehwert der erwarteten ß-Octacetyl-iso-maltose errechnet sich nämlich aus den entsprechenden Maltose- und Gentiobiosewerten nach der H u d s o n 'schen Superpositionsregel zu etwa $+ 72^{\circ}$.

c) Fernerhin war zu vermuten, dass sich die ß-Form des Disaccharids während der Umsetzung zu einem gewissen Anteil auch in die α-Form umlagert, so dass ein weiteres isomeres Disaccharid im Reaktionsgemisch vorlag und die gefundenen Drehwerte in noch stärkerem Grade zu deuten erschwerte.

Diese Schwierigkeiten sollten beseitigt werden durch eine

Reinigung des Octacetats

von den genannten Beimengungen. Zuerst versuchten wir mit Hilfe verschiedener Lösungsmittel eine hinreichende Abtrennung des Monosaccharids zu bewerkstelligen. Bekanntlich sind aber die Löslichkeitsunterschiede zwischen Mono- und Disaccharidacetaten nur gering. Daher ließ sich selbst durch umständliche fraktionierende Trennungsverfahren mittels verschiedener Gemische aus Äther und Petroläther lediglich eine Anreicherung, aber keine Reingewinnung des Disaccharidacetats erreichen. Die Trennung wurde durch Molekulargewichtsbestimmungen kontrolliert.

Mit Erfolg ließ sich dagegen die Abtrennung des Glucoseacetats durch Molekulardestillation (1)

1) K.Freudenberg u. Mitarbeiter, A. 494, 57 (1932).

durchführen. Ein Modellversuch mit einem Gemisch von ß-Pentacetylglucose und Octacetyl-saccharose ergab ein quantitatives Herausdestillieren des Monosaccharid-acetats aus der Schmelze bei 100-120° Badtemperatur und 0.001-0.01 mm Druck, während normalerweise Pentacetyl-monosen im Hochvakuum erst bei ca. 180° übergehen.

Entsprechend unterwarfen wir auch das aus der Synthese stammende Gemisch unter den gleichen Bedingungen der Molekulardestillation, bis kein Destillat mehr überging. Hiernach musste die Trennung vollzogen sein.

Um die Fehler auszuschalten, die durch eine eventuelle Bildung der α-Form der Octacetyl-iso-maltose entstanden, wurde der Drehwert weiterhin nicht mehr vom Octacetat, sondern nach dessen Verseifung erst vom freien Kohlehydrat bestimmt. Unter diesen Umständen ergaben sich bei den günstigsten, oben ermittelten Mengenverhältnissen Disaccharid-Drehwerte von 44.0° und 47.8° (Wasser). Bei einem Gentiobiose-Drehwert von + 9° und einem nach der H u d s o n 'schen Regel errechneten 6-Isomaltose-Drehwert von + 105° entsprechen die gefundenen Drehwerte einem Mischungsverhältnis von 35 % α- und 65 % ß-Glucosido-glucose.

Entfernung der Gentiobiose.

Um aus dem Gemisch der Disaccharide die Gentiobiose zu entfernen, ließen wir das ß-glucosidatische Ferment Emulsin so lange auf die wässrige Lösung der Disaccharide einwirken, bis keine Veränderung des Drehwerts mehr zu beobachten war, was bei 35° im Mittel 3 Tage dauerte. Zur Kontrolle, ob nicht etwa nur das Emulsin zerstört war, wurde hierauf nochmals frisches Enzym zugesetzt und in einem anderen Versuch sogar das freie Disaccharid über das Acetat isoliert und gereinigt und neuerdings mit Emulsin behandelt. In beiden Fällen blieb der Drehwert konstant, so dass kein Zweifel mehr bestand, dass alle Gentiobiose beseitigt war.

Die Steigerung des Drehwerts während der Emulsineinwirkung betrug durchschnittlich 45 % des Anfangswertes. Hieraus ergab sich ein neuer Disaccharid-Drehwert von rund 65°, der immer noch ca. 38 % unter dem theoretisch errechneten Wert der 6-Isomaltose lag.

Rückacetylierung des Disaccharids.

Weiter oben wurde darauf hingewiesen, dass das Disaccharidacetat unter anderem wohl auch deshalb nicht auskristallisierte, weil während seiner Synthese vermutlich ein Übergang der ß-acetylierten Form in die α-Form erfolgt sei. Der Nachweis für eine tatsächliche Umwandlung dieser Art konnte durch eine Rückacetylierung des freien Disaccharids mittels wasserfreien Natriumacetats und Essigsäureanhydrid erbracht werden. Diese Acetylierungsmethode liefert bekanntlich immer das ß-Acetat. Da ferner durch die Emulsinspaltung der Gentiobiose Glucose entstanden war, wurde nach der Reacetylierung neuerdings die Trennung durch Molekulardestillation durchgeführt.

Der Erfolg der ganzen Maßnahme zeigte sich in einer durchschnittlichen Senkung des Octacetatdrehwerts um 10 %, ein Zeichen für die stattgefundene Ausmerzung eines α-acetylierten Anteils.

Nachdem nun alles zur Vereinheitlichung des Disaccharidacetats getan schien, war es erstaunlich, dass immer noch keine Kristallisation eintrat. Das Produkt schied sich bei Wegdampfen des Äthers zwar als trockenes, feinblättriges Pulver ab, Kristalle waren aber nicht festzustellen. Auf die mögliche Ursache hierfür soll noch im folgenden Abschnitt eingegangen werden.

Die Rückacetylierung diente schließlich noch einem anderen Zweck. Das freie Disaccharid lag nach der Emulsinspaltung im Gemisch mit Glucose und anderen

Verunreinigungen vor, so dass der oben aus der Drehwertsverschiebung berechnete Disaccharid-Drehwert durch direkte Messung nicht kontrolliert werden konnte. Diese Möglichkeit war jetzt durch Verseifen des leicht einwägbaren und durch Molekulardestillation gereinigten Disaccharid-octacetats gegeben, das nach quantitativer Verseifung nach Z e m p l é n zum freien Disaccharid einen Drehwert von + 58° ergab. Dieser niedrige Drehwert - für 6-Isomaltose errechnet sich ein theoretischer Wert von 105° - ist ein eindeutiges Zeichen dafür, dass nach der quantitativen Entfernung des durch Emulsin spaltbaren Disaccharids kein reines α-Disaccharid vorlag.

Das Osazon.

Trotz dieser nicht einwandfreien Ergebnisse wurde versucht das Osazon herzustellen in der Hoffnung, dass die α-Form herauszukristallisieren wäre.

Zur Osazondarstellung wurde bei einem Teil der Versuche nach der Synthese des Disaccharids sofort verseift, um Substanzverluste durch die Molekulardestillation zu vermeiden. Ausserdem ließ sich Glucose leicht als Glucosazon abtrennen, da dieses in kaltem und heissem Wasser fast unlöslich ist.

Die Bildung des Disaccharidosazons aus dem Kohlehydratgemisch verlief stets unter großem Substanzverlust, da mehrfaches Umkristallisieren zwecks Reinigung nötig war; denn nach E. F i s c h e r rufen bereits kleine Mengen Verunreinigung Schmelzpunktsdepressionen von 20-30° hervor.

Wir erhielten schließlich eine Substanz vom Schmelzpunkt 207-209°, die mit Glucosazon (Schmelzp. 204°) beim Mischschmelzen eine Depression auf 197-199° ergab. die nur unter dem Mikroskop erkennbaren Kristalle waren in der für Disaccharidosazone charakteristischen

Weise zu kleinen, igelartigen Kugeln vereinte Nädelchen. Dass noch nicht der äusserste Reinheitsgrad erreicht war, zeigte das schwache Verhornen der Substanz beim Trocknen, wie das bei nicht ganz reinen Disaccharidosazonen stets der Fall ist. Ebenso erbrachte die Stickstoffbestimmung eine Übereinstimmung mit dem theoretischen Wert eines Disaccharidosazons auf nur ca. 0.8 %.

Trotzdem lag ohne Zweifel ein Disaccharidosazon vor. Da eine weitere Reinigung wegen der geringen Substanzmenge nicht möglich war, wurde die erhaltene Substanz in dem angegebenen Reinheitsgrad mit Turanosazon verglichen, das nach R. K u h n (1) aus dem Hydrolysengemisch von Melezitose gewonnen werden konnte. Der Vergleich ergab:

1) Schmelzpunkt der synthetisierten Subst.: 207-209°
   Schmelzpunkt des Turanosazons: 214°
   Mischschmelzpunkt aus beiden : 200°

2) Drehwert der synthetischen Substanz in Methylalkohol: - 48° (wegen der geringen Löslichkeit und der starken Färbung war der Wert nur auf etwa 5 % genau bestimmbar).
   Drehwert des Turanosazons: + 51.2°.

Beide Substanzen waren also bestimmt nicht identisch. Weiterhin kann das gefundene Osazon aber auch nicht das 6-Isomaltosazon sein, denn der negative Drehwert steht in offenkundigem Widerspruch zu allen Erfahrungen mit α-glucosidischen Disaccharidosazonen. Maltosazon dreht zum Beispiel bei + 75°. Ausserdem kann es sich auch nicht um Gentiobiosazon handeln, da einmal auf Grund der sorgfältigst durchgeführten Emulsinspaltung die Anwesenheit von Gentiobiose äusserst unwahrscheinlich ist und zweitens das Osa-

---

1) B. 59, 1660 (1929).

zon der Gentiobiose schon bei 179-180° schmilzt. Wir haben nur folgende Erklärung für diese eigenartigen Ergebnisse.

Das synthetisierte Disaccharidgemisch besteht

1) aus einem durch Emulsin spaltbaren Disaccharid, wahrscheinlich Gentiobiose;

2) aus einem weiteren ß-glucosidischen Disaccharid, das durch Emulsin nicht spaltbar ist und das beschriebene negativ drehende Osazon liefert, über dessen Natur keine näheren Angaben möglich sind;

3) aus einem positiv drehenden Anteil, der nicht isoliert werden konnte.

Es wurde schließlich noch versucht, aus den Mutterlaugen des Disaccharidosazons eine rechtsdrehende Fraktion abzuscheiden, da ja das Turanosazon von allen Disaccharidosazonen die größte Löslichkeit besitzt. Aber bereits das erste Kristallisat und auch seine Mutterlauge drehten negativ. Die Synthese des 6-Isomaltosazons und damit die beabsichtigte Konstitutionsermittlung der Turanose ist also nicht gelungen.

Wir hatten bereits begonnen, in einer dritten Versuchsreihe die Synthese mit 2,3,4-Triacetyl-ß-benzylglucosid statt Tetracetylglucose zu wiederholen, da diese Substanz infolge der Glucosidnatur jede α-ß-Isomerisation des entstandenen Disaccharids verhindert und andererseits durch Hydrierung leicht wieder in das zur Osazonbildung befähigte Disaccharid verwandelt werden kann. Der konfigurative Verlauf der Synthese hätte sich in diesem Falle viel einfacher verfolgen lassen. Durch die in der Einleitung erwähnte neue Arbeit von P a c s u wurde jedoch dieser Versuch hinfällig.

Experimenteller Teil.

1) Partielle Tritylierung von d-Mannit.

5 g getrockneter Mannit wurden in 50 ccm absolutem Pyridin heiß gelöst, nach dem Abkühlen mit 4.6 g reinstem Triphenylchlormethan versetzt und 6 Stunden am Rückfluss unter Feuchtigkeitsausschluss gekocht. Die abgekühlte Lösung wurde in feinem Strahl und unter kräftigem Umrühren in 1 Liter Eiswasser gegossen, wobei ein fester körniger Niederschlag entstand. Dieser Rückstand a ergab beim Kristallisieren aus heißem 70 %igem Alkohol ca. 3.5 g einer Substanz vom Schmelzpunkt 160-161°, die durch Mischschmelzpunkt als Triphenylcarbinol identifiziert werden konnte.

Aus der Mutterlauge von a schied sich nach starkem Eindampfen im Vakuum zur Entfernung der Hauptmenge des Pyridins ein weiterer Niederschlag ab. Um unveränderten Mannit zu lösen, wurde nochmals Wasser zugesetzt.

Der zurückbleibende Rückstand b von ca. 0.1 g erwies sich wieder als Triphenylcarbinol.

Aus der Mutterlauge von b kristallisierte nach einiger Zeit der gesuchte Mono-trityl-mannit in rechteckigen Täfelchen aus. Er wurde zentrifugiert und mit 40 %igem Alkohol ausgewaschen. Ausbeute ca. 20 mg; Fp. = 119-120°.

Der Identitätsnachweis wurde durch die Überführung der Verbindung in Trityl-pentacetyl-d-mannit erbracht und geschah durch Lösen der Substanz in 2 ccm abs. Pyridin und Zusetzen von 1 ccm Essigsäureanhydrid. Nach Stehen über Nacht wurde die Lösung in Eiswasser

eingetropft und der kristalline Niederschlag nach dreistündigem Stehen aus Alkohol umkristallisiert. Ausbeute: 30 mg; Fp. = 168°.

Die Übereinstimmung mit Pentacetyl-trityl-mannit (Versuch 3) ergab sich aus folgenden Mischschmelzpunkten:

Mischschmelzpunkt mit

Pentacetyl-trityl-mannit	keine Depression
Triphenylcarbinol	32° Depression
Ditrityl-tetracetyl-mannit ...	11-12° Depression

2) Änderung der Darstellung des 1,2-Monoaceton-d-mannit-4,5-monoborsäureesters.

Zur Acetonisierung von 50 g Mannit verwandte V a r g h a (1) 1000 ccm Aceton, 14.4 g Borsäure und 10 ccm konz. Schwefelsäure. Wir fanden, dass schon 500 ccm Aceton und 7.6 ccm Schwefelsäure genügten. Hierdurch wird bei gleicher Ausbeute eine wesentliche Ersparnis an Aceton und ein schnelleres Neutralisieren bei der Aufarbeitung ermöglicht.

3) Darstellung von Pentacetyl-trityl-d-mannit.

20 g des 3,4,5,6-Tetracetyl-d-mannits (1) wurden in 100 ccm abs. Pyridin gelöst und nach dem Abkühlen 17.5 g Tritylchlorid (Fp. = 110-111°) zugegeben. Nach 48-stündigem Stehen bei Raumtemperatur war die Tritylierung beendet. Hierauf erfolgte zur Acetylierung der noch freien Hydroxylgruppe Zusatz von 40 ccm Essigsäureanhydrid und nochmaliges Stehenlassen der Lösung über Nacht. Zur Aufarbeitung ließen wir die Lösung in ca. 1 Liter Eiswasser eintropfen. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit eiskaltem Wasser

---

1) Vargha, B. 66, 1394 (1933).

gründlich ausgewaschen, bis der Geruch nach Pyridin nahezu verschwunden war. Der zwischen Filtrierpapier getrocknete Niederschlag wurde schließlich aus heißem Alkohol umkristallisiert. Ausbeute: 20-21 g, d.s. 55-58 % der theoretischen Menge. Fp. nach nochmaligem Umkristallisieren 167-168°.

C-H-Bestimmung.

3.902 mg Subst.: 9.482 mg CO_2, 2.144 mg H_2O

$C_{35}H_{38}O_{11}$	Ber.	C	66.25	H	5.99
	Gef.		66.27		6.15

Die Substanz ist leicht löslich in Chloroform und Pyridin, mäßig löslich in Methyl- und Äthylalkohol, schwer löslich in Äther und unlöslich in Petroläther und Wasser.

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{1.52^\circ \cdot 25 \text{ ccm}}{0.5075 \text{ g} \cdot 2 \text{ dm}} = 37.93^\circ \quad \text{(Chlf.)}$$

4) 1,2,3,4,5-Pentacetyl-d-mannit.

a) Tritylabspaltung durch Bromwasserstoff-Eisessig.

3 g Pentacetyl-trityl-mannit wurden in 6 ccm Eisessig auf dem Wasserbad in Lösung gebracht. Zu der vorsichtig in Eis gekühlten übersättigten Lösung wurde 1 ccm einer bei 0° gesättigten Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig gegeben und durchgeschüttelt. Wie bei der Darstellung von Tetracetylglucose färbte sich die Lösung durch Halochromie gelb und nach kurzer Zeit schied sich Tritylbromid als weißer Niederschlag ab, der schnell abgesaugt und mit ganz wenig Eisessig nachgewaschen wurde. Der Niederschlag wurde durch Mischschmelzpunkt als Tritylbromid identifiziert. Ausbeute: 1.85 g = 94 % d.Th.

Die Lösung wurde mit ca. 20 ccm Eiswasser in einen Scheidetrichter gebracht und das durch flocki-

ge Ausscheidung trübe Gemisch mit insgesamt 30 ccm Chloroform in drei Portionen ausgeschüttelt. Die abgetrennte Chloroformlösung wurde hierauf zur Neutralisation mit einer wässrigen Aufschlämmung von Natriumbicarbonat bis zur Beendigung der CO_2-Entwicklung durchgeschüttelt und mit geglühtem Natriumsulfat getrocknet. Nun wurde bei einer Badtemperatur von 35-45° i.V. eingedampft bis zum farblosen Sirup. Dieser löste sich ziemlich leicht in 20 ccm Äther und auf vorsichtige allmähliche Zugabe von 10-15 ccm Petroläther entstand eine erst tröpfchenförmige, dann allmählich kristallisierende Abscheidung, die nach Umkristallisieren aus einem Gemisch von gleichen Teilen Äther und Petroläther schließlich 350 mg einer Substanz vom Schmelzpunkt 84 - 85.5° ergab und nach weiterem zweimaligem Umkristallisieren mit Äther-Petroläther konstant bei 87-88° schmolz.

C-H-Bestimmung.

3.750 mg Subst.: 6.740 mg CO_2, 2.122 mg H_2O

$C_{16}H_{24}O_{11}$	Ber.	C	48.99	H	6.12
	Gef.		49.02		6.33

b) Tritylabspaltung durch Chlorwasserstoff-Chloroform.

1.5 g des Tritylkörpers, in 2 ccm Chloroform gelöst, wurde mit 4.5 ccm einer bei 0° gesättigten Lösung von Chlorwasserstoff in Chloroform versetzt und 5 Minuten stehen gelassen. Dann wurde die Chloroformlösung im Vakuum eingedampft, zur völligen Beseitigung des Chlorwasserstoffs nochmals mit Chloroform aufgenommen und eingedampft und der teils sirupartige, teils kristallisierte Rückstand mehrmals mit Wasser ausgezogen, wobei eine körnige Masse vom Schmelzpunkt 130-140° zurückblieb. Der Mischschmelzpunkt mit Triphenylcarbinol ergab keine Depression. Der Rückstand bestand wahrscheinlich aus einem Gemisch von unverändertem Ausgangsmaterial und Triphenyl-

carbinol, das durch Hydrolyse des bei der Abspaltung gebildeten Tritylchlorids entstanden war. Demnach war die Abspaltung nur teilweise vor sich gegangen.

Die vereinigten wässrigen Lösungen wurden im Vakuum eingedampft, der farblose Sirup in Äther aufgenommen und mit Petroläther bis zur eben bleibenden Trübung versetzt. Nach längerem Stehen und Impfen erfolgte Kristallisation des gewünschten Produkts.

Ausbeute: 90-100 mg, Fp. = 86-87°. Der Mischschmelzpunkt mit dem schon beschriebenen Produkt aus Versuch a) ergab keine Depression, es war also der gleiche Stoff entstanden.

Weitere Versuche, die Abspaltung mit einem Überschuss an Chlorwasserstoff-Chloroform durchzuführen, ergaben überhaupt kein kristallisiertes Endprodukt.

c) Tritylabspaltung durch katalytische Hydrierung (1).

3 g Pentacetyl-trityl-mannit wurden in 50 ccm Eisessig gelöst, 1 g Palladium-Tierkohle zugegeben und bei ca. 50° in der Hydrierbirne geschüttelt. Nachdem 150 ccm Wasserstoff - 20 ccm mehr als die theoretische Menge - aufgenommen waren, wurde filtriert und der Eisessig i.V. abgedampft (bis 40° Badtemperatur). Zur Entfernung des entstandenen Triphenylmethans wurde mehrmals mit Petroläther digeriert. Aus der Petrolätherlösung ließ sich der genannte Kohlenwasserstoff in annähernd theoretischer Menge isolieren, ein Zeichen, dass die Tritylabspaltung vor sich gegangen war.

Der in Petroläther unlösliche Rückstand wurde je zweimal in Äther aufgenommen und die Lösung zur Entfernung der letzten Reste Essigsäure i.V. zum Sirup eingeengt. Beim zweiten Abdampfen des Äthers begann

---

1) Micheel, B. 65, 264 (1932).

der Sirup teilweise zu kristallisieren. Die Kristalle wurden auf dem Tonteller abgetrennt und zeigten nach zweimaligem Umkristallisieren aus Äther-Petroläther einen Schmelzpunkt von 87°. Der Mischschmelzpunkt mit dem schon beschriebenen Produkt ergab keine Depression.

Versuche der gleichen Art mit Dioxan als Lösungsmittel und mit verschiedenen anderen Katalysatoren ergaben entweder keine Kristallisation oder führten überhaupt zu keiner Abspaltung des Tritylrestes.

5) Versuch zur Retritylierung des Pentacetyl-mannits.

0.11 g Pentacetyl-mannit wurden in 3 ccm abs. Pyridin gelöst und mit 0.1 g Tritylchlorid versetzt. Nach zweitägigem Stehen wurde wie beim Trityl-pentacetyl-mannit aufgearbeitet. Es ließen sich jedoch ausser 0.08 g Triphenylcarbinol keine Kristalle, sondern nur ein Sirup erhalten. Offenbar war beim Lösen des Pentacetyl-mannits in Pyridin wieder Acylwanderung erfolgt, sodass keine primäre Hydroxylgruppe zur Verätherung mit Tritylchlorid mehr vorhanden war.

6) Ausführung der Disaccharid-Synthese.

Sämtliche Synthesen wurden, abgesehen von den Mengenverhältnissen, nach folgender Vorschrift ausgeführt:

20 g 1,2,3,4-ß-Tetracetyl-glucose (25 % Überschuss), 18.9 g α-Acetobromglucose und 5.7 g Quecksilberacetat (76.5 % der Theorie) wurden zunächst durch tagelanges Stehen über Phosphorpentoxyd getrocknet, dann mit 200 ccm abs. Benzol aufgenommen und 2 Stunden am Rückfluss unter Feuchtigkeitsausschluss gekocht. Die abgekühlte Lösung wurde mehrmals mit Wasser (insgesamt 500 ccm) ausgeschüttelt, wobei häufig störende Emulsionen auf-

traten, die durch geringe Abscheidung eines festen Körpers verursacht wurden, sich aber durch Absaugen, nötigenfalls über Kieselgur, beseitigen ließen. Nach Trocknen mit Calciumchlorid wurde die Benzollösung im Vakuum bei nicht mehr als 45° Badtemperatur zum Sirup eingeengt und zur vollkommenen Entfernung des Benzols noch zweimal mit Alkohol abgedampft. Es blieb ein dunkelgelber Sirup zurück, der durch Kochen mit Tierkohle in Äther wesentlich aufgehellt werden konnte. Ausbeute: 42 g.

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{1.04^\circ \cdot 5 \text{ ccm}}{0.0972 \text{ g} \cdot 1 \text{ dm}} = 53.5^\circ \text{ (Chlf.)}$$

7) Verseifung des Acetatgemisches.

Die Verseifung von 30 g Acetatsirup geschah nach Z e m p l é n (1) bis zur Abscheidung des gallertigen Niederschlages der Additionsverbindung. Zur Aufarbeitung gaben wir unter ständigem Umschütteln und starker Kühlung sofort 2 n Essigsäure in kleinen Portionen bis zur schwach sauren Reaktion zu, um das Entstehen eines alkalischen Mediums zu vermeiden. Hierauf wurde der Essigester und ein Teil des Wassers im Vakuum weggedampft. Die erhaltene Lösung von freien Disacchariden und Glucose wurde direkt weiterverarbeitet. Ausbeute: 14.5 g farbloser Sirup.

Nach erfolgter quantitativer Verseifung wurde zur Drehwertsbestimmung der erhaltene Sirup in einem Meßkolben mit Wasser auf 50 ccm aufgefüllt.
$[\alpha]_D^{20} = 60.02^\circ$.

1) B. 59, 1258 (1926).

8) Spaltung des ß-glucosidischen Anteils durch Emulsin.

Die bei der Verseifung von 30 g Acetat erhaltene Lösung wurde ohne weitere Reinigung mit 5 g Natriumacetat und Essigsäure auf p_H 5-6 gepuffert und mit einer durch Kieselgur filtrierten Lösung von 2.5 g Emulsin (Merck) in 50 ccm Wasser versetzt. Mit Rücksicht auf die auszuführenden Drehwertsbestimmungen wurde mit Wasser genau auf 250 ccm aufgefüllt. Zur Verhinderung etwaiger Gärungsvorgänge überschichteten wir die Lösung mit Toluol und ließen sie bei 35° im Thermostaten stehen. Die täglich durchgeführte Drehwertskontrolle ergab folgendes Bild:

Tabelle 3.

Versuchsdauer in Stunden	abgelesen
0	1.76°
24	2.50°
48	2.80°
72	2.81°
100	2.81°

Nach beendeter Spaltung wurde die Lösung zur möglichst quantitativen Abscheidung des Emulsins mehrmals auf rund 40 ccm im Vakuum eingeengt, die Eiweißstoffe durch Zugabe von 100 ccm Methanol ausgefällt und durch Kieselgur filtriert. Eine weitere Reinigung des erhaltenen Kohlehydratsirups wurde nicht vorgenommen.

9) Rückacetylierung.

Die bei der Emulsinspaltung erhaltene Lösung der freien Zucker wurde im Vakuum bis zum Sirup eingeengt und zur völligen Entfernung des Wassers zweimal mit Eisessig abgedampft, zuletzt jedoch nur bis zu beginnenden Sirupbildung. Dann wurde mit 50 ccm Eisessig wieder vollständig gelöst, 14 g wasserfreies Natriumacetat und 160 ccm Essigsäureanhydrid zugesetzt und 3 Stunden im Dampfbad erhitzt. Nach Abkühlen wurde die dunkel gewordene Lösung in 2 Liter Eiswasser getropft und zur Zerstörung des überschüssigen Anhydrids einige Stunden stehen gelassen.

Der braune, etwas zähe Niederschlag wurde abgesaugt, mit Eiswasser mehrmals nachgewaschen und nach Aufnahme in Chloroform mehrmals mit Wasser zur Entfernung noch vorhandener Essigsäure durchgeschüttelt. Nach Trocknen der Lösung mit Natriumsulfat wurde das Chloroform im Vakuum entfernt und aus dem Sirup durch wiederholtes Digerieren mit Äther die Zuckeracetate ausgezogen, wobei die Verunreinigungen als bröckelige Masse zurückblieben.

Die Ätherlösung ergab nach zweimaligem Behandeln mit Tierkohle beim Eindampfen 10.3 g eines nahezu farblosen Sirups, der nurmehr aus einem Gemisch von ß-Glucose-pentacetat und gegen Emulsin beständigem Disaccharidacetat bestehen konnte.

10) Versuch zur Trennung der Mono- und Disaccharid-acetate durch fraktionierte Fällung.

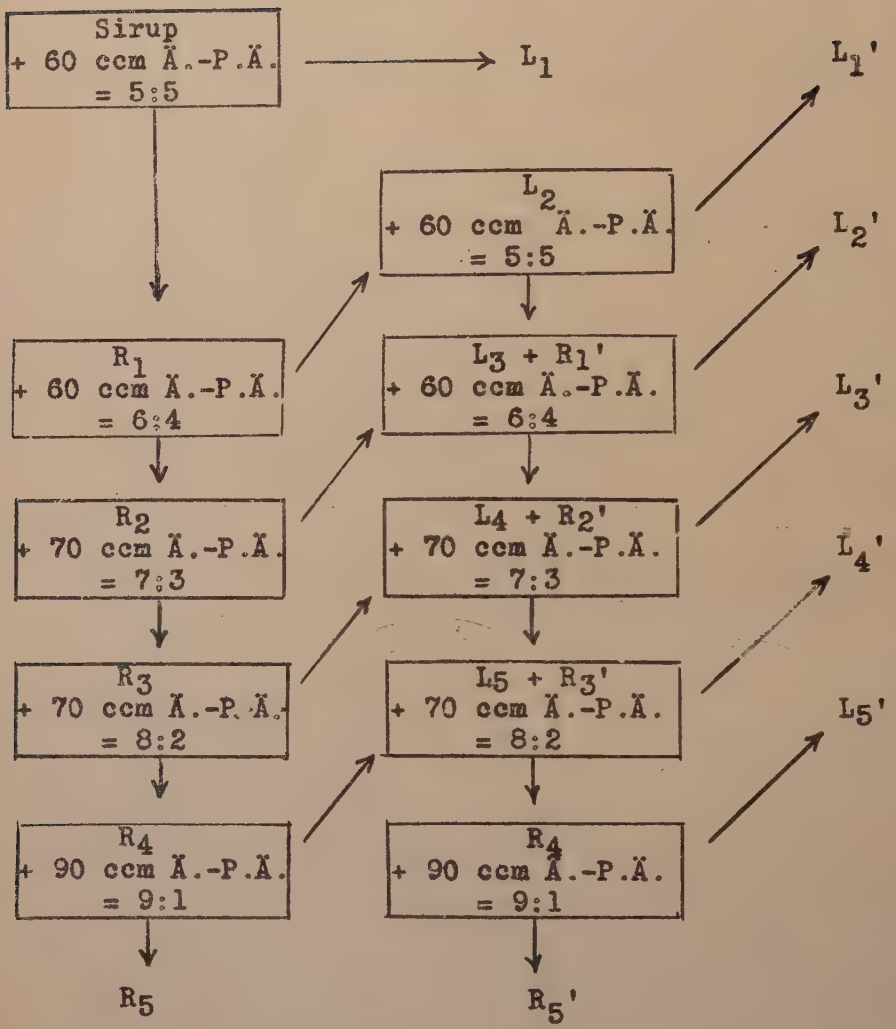
20 g des als Produkt der Synthese erhaltenen gelben Sirups wurden nacheinander mit verschiedenen Äther-Petroläther-Gemischen steigenden Äthergehalts fraktioniert extrahiert. Der ziemlich zähe Sirup wurde zur einigermaßen erschöpfenden Extraktion jedesmal etwa 10 Minuten mit dem Glasstab durchgearbei-

tet. Die Trennung geschah nach folgendem Schema, in dem mit R die jeweiligen ungelösten Rückstände und mit L die gelösten Fraktionen bezeichnet sind. Als Endstufen der Trennung wurden die leicht löslichen Fraktionen L_1 und L_1' und die schwer löslichen Rückstände R_5 und R_5' erhalten, deren nach R a s t bestimmte Molekulargewichte in Tabelle 4 wiedergegeben sind.

Tabelle 4.

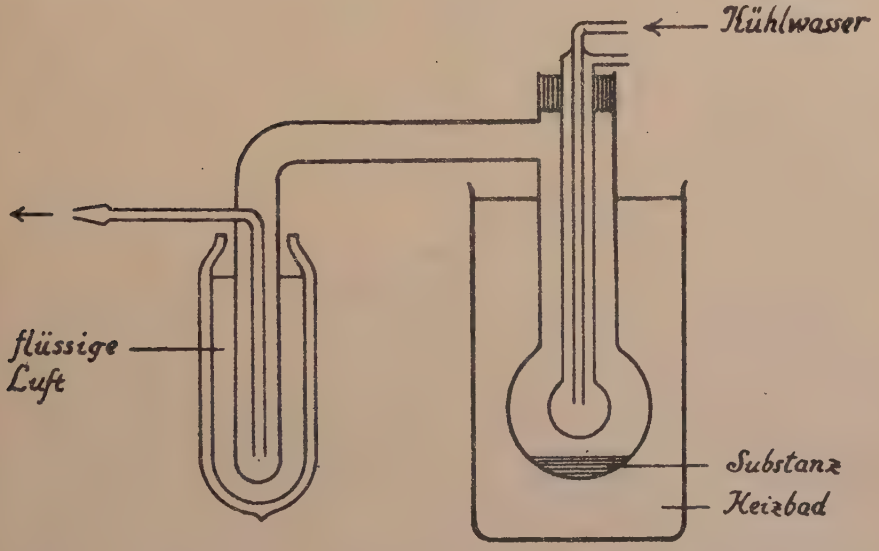
	Menge in g	Molekulargewicht		äussere Beschaffenheit
		theoret.	gefunden	
Ausgangssubst.	22.1	-	368	Sirup
$L_1 + L_2$	2.35	390	Zers.bei Best.	Sirup
R_5	5.60	678	564	seidig glänzendes Pulver
R_5'	1.10	678	566	ebenso

Trennungsschema



11) Trennung der Mono- und Disaccharidacetate durch Molekulardestillation.

Die für die Destillation benutzte Apparatur sei kurz beschrieben: Als Destillationsgefäß diente ein ca. 3 cm weites Rohr, das am unteren Ende zu einer Kugel zur Aufnahme der Substanz erweitert war und in ein Paraffinbad eintauchte. In die Kugel ragte - durch einen Gummistopfen gehalten - ein von Wasser



durchflossener und gleichfalls kugelig erweiterter Kühler. Am oberen Ende des Destillationskolbens war seitlich ein rund 2 cm weites Rohr angeschmolzen, das in flüssige Luft getaucht wurde, um etwaige flüchtige Zersetzungsstoffe zu kondensieren. Die geräumige Weite des Rohres verhinderte einen Druckstau und damit verbundene Verschlechterung des Vakuums im Destillationsraum. Aus dem gekühlten Rohrteil führte ein Ansatz mit Schliff zur Hochvakuumpumpe.

Bei dem erzielten Druck von 0.001 bis 0.005 mm Hg bedeutete der geringe Abstand (0.5 - 1 cm) des Kühlers von der erhitzten Substanz nur einen Bruchteil der mittleren freien Weglänge der Moleküle an der Flüssigkeitsoberfläche, sodass die Voraussetzung für die ideale Destillation gegeben war.

a) Modellversuch mit einem Gemisch von Saccharose- und Glucoseacetat.

Ein Gemisch von 0.5 ß-Pentacetyl-glucose und 0.5 g ß-Octacetyl-saccharose wurde in dem beschriebenen Destillationskolben bei 70-80° zusammengeschmolzen und bei etwa 0.005 mm Druck vorsichtig erwärmt. Bei 85-90° begann der Kühler sich zu beschlagen. Nachdem die Badtemperatur allmählich auf 120° gestiegen war, wurde noch 45 Minuten weiter destilliert. In dieser Zeit waren 0.44 g Glucoseacetat vom Schmelzpunkt 128-129° sublimiert.

Nach weiterem 3/4-stündigem Erhitzen auf 120° gingen nochmals 0.05 g der gleichen Substanz über, während ein noch längeres Erhitzen 0.03 g uneinheitliche Substanz mit unscharfem Schmelzpunkt ergab, d.h. es destillierte offenbar bei zu langem Erhitzen etwas Disaccharidacetat mit über. Der Rückstand schmolz bei 50-55° und betrug 0.48 g. Die Trennung der beiden Acetate war demnach nahezu quantitativ gelungen.

Bei 180° Badtemperatur ließ sich schließlich noch das Disaccharidacetat übertreiben.

b) Anwendung auf das synthetische Acetatgemisch.

9 g Sirup wurden in der Destillationsapparatur vorsichtig erwärmt bis die letzten Reste Äther verdampft waren, da sonst leicht explosionsartiges Stoßen eintrat. Die Sublimation setzte bereits bei 80-90° kräftig ein und lieferte noch unter 100° innerhalb 20 Minuten 0.8 g Sublimat. Nach Erhöhung

der Badtemperatur auf 130° gingen innerhalb 1/2 Stunde noch weitere 0.5 g über. Dann ließ die Destillationsgeschwindigkeit erheblich nach und es sublimierten während weiterer 10 Stunden trotz kräftigen Umrührens der Schmelze nurmehr ganz kleine Mengen. Das Destillat betrug insgesamt 1.68 g.

Bei dem langen Erhitzen hatte sich infolge teilweiser Zersetzung der Rückstand stark verfärbt. Zur Reinigung wurde, wie oben, in Chloroform aufgenommen, im Vakuum eingeengt, mehrmals mit Äther gründlich digeriert, wobei ein brauner bröckeliger Rückstand verblieb, und schließlich die dunkelgelbe Lösung durch Kochen mit Tierkohle in Äther nahezu vollständig entfärbt.

Die Ausbeute betrug nach Eindampfen 4.95 g Disaccharidacetat in Form eines trockenen, feinblätterigen Pulvers.

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{0.82^\circ \cdot 5 \text{ ccm}}{0.0764\text{g} \cdot 1 \text{ dm}} = 53.7^\circ \text{ (Chlf.)}$$

12) Darstellung des Phenylosazons.

1.2 g des reacetylierten, durch Molekulardestillation gereinigten und nochmals verseiften Disaccharids wurden in 20 ccm Wasser gelöst. Hierzu kam eine Lösung von 3.75 g frisch destilliertem Phenylhydrazin in 18 ccm Wasser und 2.2 ccm Eisessig und 1.5 g Natriumacetat. Das Gemisch wurde 2 Stunden im Dampfbad unter öfterem Umschütteln erhitzt. Aus der erst klaren Lösung begann sich nach ca. 30 Minuten etwas Glucosazon als hellgelber flockiger Niederschlag abzuscheiden, von dem nach beendigtem Erhitzen auf einem mit Dampf geheizten Porzellantrichter abgesaugt wurde. Ausbeute an Glucosazon: 0.23 g.

Die Lösung ergab beim Abkühlen einen dicken, fast gallertigen Niederschlag, der abgesaugt und mit Wasser ausgewaschen wurde. Zur Reinigung wurde er mehrmals aus 40 %igem Alkohol umkristallisiert. Da die Kristalle ausserordentlich klein waren, wurde die alkoholische Lösung, um eine möglichst langsame Abscheidung zu erreichen, in ein großes Gefäß mit heißem Wasser gestellt und langsam abkühlen gelassen. Schließlich entstanden winzige, zu igelartigen Gebilden vereinigte Nädelchen vom Schmelzpunkt 208-209°. Der Mischschmelzpunkt mit Glucosazon und Turanosazon ergab Depressionen von 7-8° bezw. 8-9°.

Die Substanz ist ziemlich schwer löslich in kaltem Methyl- und Äthylalkohol und - im Gegensatz zu Turanosazon - auch schwerlöslich in heißem Wasser.

Stickstoffbestimmung.

3.370 mg Subst.: 0.355 ccm N_2 (21°, 718 mm)

$C_{24}H_{32}O_9N_4$ Ber. N 10.78
Gef. 11.6

Drehwertsbestimmung.

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{-0.14^\circ \cdot 2 \text{ ccm}}{0.0056 \text{ g} \cdot 1 \text{ dm}} = -47.9^\circ \text{ (Methanol)}$$

Drehwertsbestimmung von Turanosazon.

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{+1.12^\circ \cdot 25 \text{ ccm}}{0.2731 \text{ g} \cdot 2 \text{ dm}} = +51.2^\circ \text{ (Methanol)}$$

Lebenslauf

Geboren am 17. März 1905 zu Miesbach, besuchte ich in meiner Heimatstadt München die Volksschule und das Alte Realgymnasium, an dem ich 1924 die Reifeprüfung ablegte. Anschließend studierte ich 3 Semester Chemie an der Technischen Hochschule München und weitere 6 Semester Naturwissenschaften an der Universität München. Mit dem bayerischen Lehramtsexamen für Chemie, Biologie und Erdkunde beschloss ich 1930 mein erstes Studium. Von 1930 bis 1937 unterrichtete ich als Studienassessor an einem Gymnasium in Saarbrücken. 1937 setzte ich an der Universität München das Chemiestudium fort und legte im November des gleichen Jahres das erste und im Dezember 1938 das zweite Verbandsexamen ab. Darauf begann ich mit der Ausführung meiner Doktorarbeit.